6. تحليل العناصر الغذائية والصوديوم والأنيونات في التربة

1.6 الآزوت

عند استعراض الإحتياجات الكبيرة للمحاصيل من الآزوت وتدني المستويات المتاحة فعلياً في جميع نماذج التُرب، نجد أن الآزوت هو أكثر العناصر الغذائية أهمية في الزراعة. كما يعد رصد دينامية آزوت السماد N fertilizer في الترب مهماً من وجهة النظر البيئية.

يوجد الآزوت في التربة بأشكال عديدة، منها *العضوي* ***organic*** ومنها *اللاعضوي* ***inorganic***. إن الأشكال السابقة، المكونة في الغالب من بقايا النبات والبكتريا، متباينة التركيب. فقد تكون أساسية في كمياتها الفعلية والنسبية في ترب المناطق ذات الحرارة المعتدلة. ومع تزايد الجفاف، تميل كميات الآزوت العضوي وآزوت التربة الكلي total soil N إلى الانخفاض.

يتألف الشكل اللاعضوي من آزوت التربة من أشكال الأمونيوم (NH_4^+)، والنترات (NO_3^-)، والنتريت (NO_2^-). وتؤثر عوامل البيئة (درجة الحرارة والرطوبة) والإدارة (التسميد، الزراعة، إلخ...) في العلاقة الدينامية بين الأشكال العضوية، وكذلك بين الأشكال اللاعضوية (انظر دورة N في **الشكل 5**).

يُقاس شكلي الآزوت الأمونياكي NH_4-N والنتراتي NO_3-N روتينياً في مختبرات التربة، لأنهما يعكسان مدى عملية التمعدن mineralization ، وهما شكلا الآزوت اللذين يمتصهما النبات، لقد أُثبت في منطقة CWANA أن محتوى الآزوت النتراتي nitrate-N في الترب يعد مؤشراً جيد التنبؤ بكمية آزوت السماد المطلوب للمحاصيل. ويقاس شكل الآزوت العضوي organic-N كأحد المقاييس لاحتياطي الترب من الآزوت أوقدرته على تحرير الآزوت لتلبية احتياجات المحصول من خلال عملية التمعدن. لذلك، تتباين طرائق تحليل الآزوت اعتماداً على جزئيات الآزوت أو الأشكال العضوية المختلفة له.

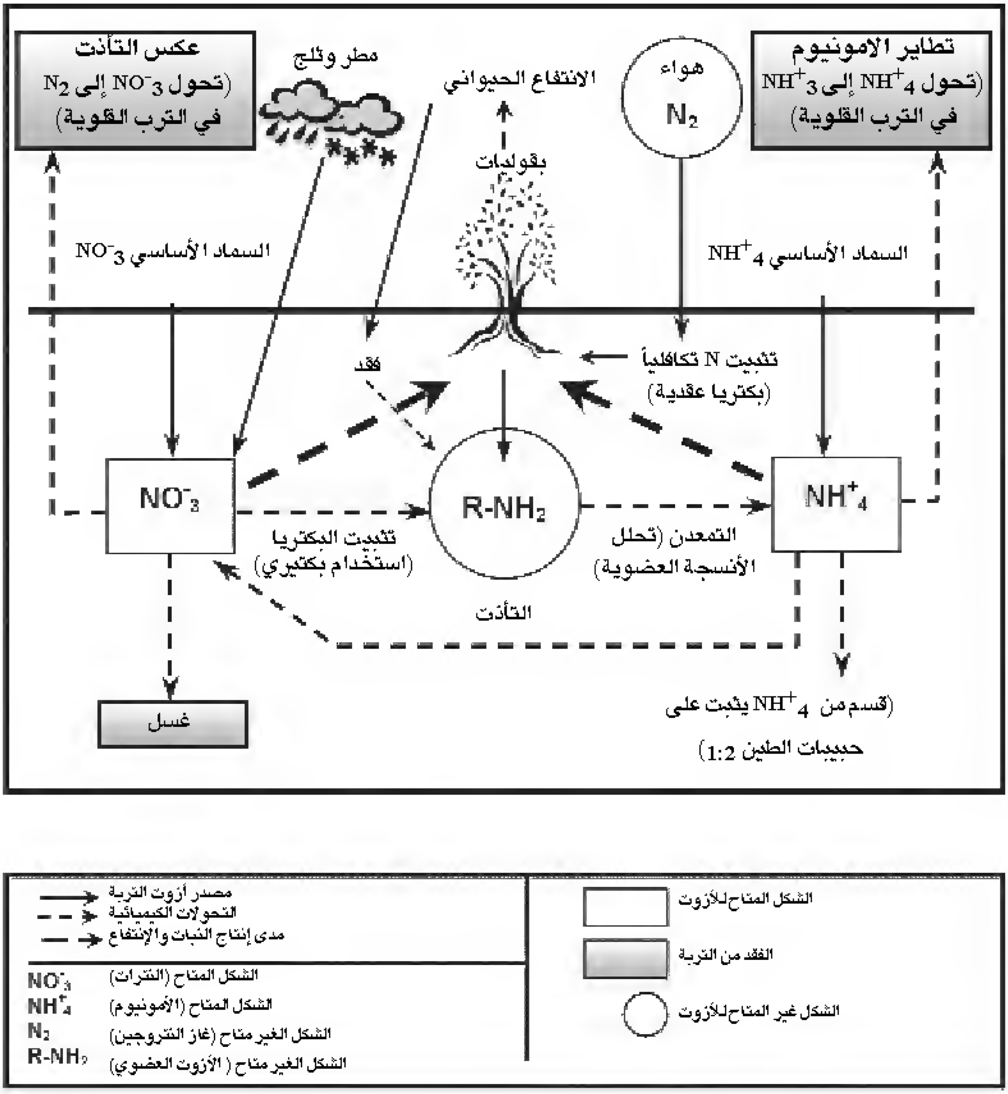
وعموماً يُقاس شكل آزوت التربة الكلي (الشكل العضوي بشكل رئيسي) بعد عملية الهضم الرطب wet digestion باستخدام طريقة كلداهل kjeldahl المعتمدة. وتُقدر عادة الأشكال غير العضوية للآزوت (NH_4^++NO_3^-+NO_2^-) باستخدام طريقة التقطير distillation بعد عملية استخلاص التربة بمحلول KCl 2 *M*. وبالإضافة إلى عملية التقطير، يمكن تحديد NO_3-N بطريقة حمض *الكروموتروبيك* *chromotropic acid*.

1.1.6 تقدير الآزوت بطريقة kjeldahl

تشمل هذه الطريقة عمليتي *الهضم* *digestion* *والتقطير* *distillation*. إذ تُهضم التربة في H_2SO_4 المركز بوجود خليط مُحفز catalyst mixture لرفع درجة حرارة الغليان ولتشجيع التحول من الآزوت العضوي organic-N إلى الآزوت الأمونياكي ammonium-N. ومن ثم يُقدر الآزوت الأمونياكي في المحلول المهضوم بوساطة عملية التقطير البخاري، مستخدمين الفائض من ماءات الصوديوم (excess NaOH)

لرفع درجة pH. ثم يجمع السائل المقطر في حمض البوريك المشبع (saturated H_3BO_3) ومن ثم تتم معايرته بواسطة حمض الكبريت المخفف (dilute H_2SO_4) إلى درجة pH = 5.0 (Bremner and Mulvaney, 1982).

تقدر هذه الطريقة الآزوت الأمونياكي، ومعظم أشكال الآزوت العضوي، وأشكال مختلفة من الآزوت النتراتي في التربة. وبالنسبة لأغلبية الترب، *تعتبر طريقة الكلدامل مناسبة جداً لتقدير محتوى آزوت التربة الكلي.*



الشكل رقم 5. دورة الآزوت (Hach Company, 1992)

ويمكن تقدير الآزوت النتراتي عند الطلب، من خلال تعديلات الحديد المرجع reduced iron أوحمض الساليسيليك salicylic acid بوساطة طريقة كلداهل (انظر القسم التالي).

الأجهزة

جهاز مضم block-digester.
جهاز وحدة التقطير distillation unit.
جهاز معايرة أتوماتيكي موصول إلى جهاز automatic titrator pH.
جهاز خلاط أنابيب دوراني vortex tube stirrer.

المحاليل

أ. خليط مُحفز (K_2SO_4-$CuSO_4.5H_2O$-Se) *catalyst mixture* النسبة 100:10:1 w/w

- اطحن المواد الكيميائية النقية كل على حدة ومن ثم امزجها، وإذا أصبح المزيج كُتلة متراصة، اطحن المزيج في هاون porcelain pestle and mortar بحيث تمر المواد المجروشة في منخل قطر فتحاته 60–mesh (0.250 مم)، مع أخذ الحيطة من استنشاق غبار السلينيوم (Se) أو ملامسته للجلد.

ب. حمض الكبريت (H_2SO_4)، (sp.gr. 1.84، 98%) المركز

ج. محلول ماءات الصوديوم (NaOH)، 10 *N*

- أذب 400 غ من *ماءات الصوديوم* في الماء المقطر، وانقله إلى دورق بيركس Pyrex سميك الجدران سعة ليتر ، دعه يبرد، وأكمل إلى الحجم بالماء المقطر.

د. محلول حمض البوريك (H_3BO_3)، المشبع

- أضف 500 غ من حمض *البوريك* إلى دورق حجمي سعة 5 ليتر.
- أضف 3 ليتر من الماء المقطر، حركه جيداً.
- اتركه طوال الليل
- يجب أن يتواجد على الدوام H_3BO_3 خام في أسفل الدورق الحجمي.

هـ. محلول Tris [هيدروكسي ميثيل أمينوميتان ($C_4H_{11}NO_3$)]، 0.01 *N*

- جفف المادة الكيميائية النقية من *Tris* بالفرن على درجة حرارة 80°م لمدة 3 ساعات، ثم بردها في المجفف، واحفظها في زجاجة محكمة الإغلاق.

• أذب 1.2114 غ من *Tris* في الماء المقطر، انقل إلى دورق حجمي سعة ليتر، ثم أكمل إلى الحجم بالماء المقطر.

و. محلول حمض الكبريت (H_2SO_4)، *N* 0.01

• ضع حوالي 600–800 مل من الماء المقطر في دورق حجمي سعة ليتر، أضف 28 مل من حمض *الكبريت المركز*، وأمزج جيداً، دعه يبرد، أكمل الحجم إلى ليتر بالماء المقطر. نحصل على محلول *N* 1 H_2SO_4.

• ثم خفف 100 مرة (ضع 10مل في دورق حجمي سعة ليتر) للحصول على محلول H_2SO_4 0.01 *N*.

ز. محلول الأم القياسي

• جفف المادة الكيميائية النقية من *كبريتات الأمونيوم* $(NH_4)_2SO_4$ بالفرن على درجة حرارة 100°م لمدة ساعتين، برد بالمجفف، واحفظها في زجاجة محكمة الإغلاق.

• أذب 5.6605 غ من *كبريتات الأمونيوم* المجففة في الماء المقطر، وأكمل الحجم إلى ليتر بالماء المقطر. هذا المحلول يحتوي على 1.2 غ NH_4-N في الليتر (*محلول الأم*).

طريقة العمل

أ. الهضم

1. زن 1 غ تربة جافة هوائياً (0.15 مم) إلى أنبوب هضم مُعاير سعة 100 مل.
2. أضف حوالي 5.0–5.5 غ من **الخليط المُحفز**، عدة قطع من **حجر الخفان لتنظيم الغليان** granules pumice boiling، 15 مل من **حمض الكبريت المركز** (في حجرة شفط الأبخرة)، رج بعناية. ضع قمعاً زجاجياً في أعلى الأنبوب، بعدها ضع الأنبوب على الحامل the rack، واتركه طوال الليل.
3. ضع حامل الأنابيب rack tubes في جهاز الهضم block-digester، ومن ثم ارفع درجة الحرارة حتى درجة 370°م تقريباً. عندها سيتكاثف H_2SO_4 حتى منتصف عنق الأنبوب؛ وبعد أن يصبح محلول الهضم رائقاً تماماً، تابع التسخين بعد ذلك تقريباً لمدة 3 ساعات.
4. ارفع حامل الأنابيب من جهاز الهضم، وبحذر شديد ضعه على ماسك الحامل rack holder، ثم دع الأنابيب تبرد حتى تصل إلى درجة حرارة الغرفة.
5. أضف ببطئ حوالي 15 مل من **الماء المقطر** إلى الأنابيب، برد، ثم أكمل إلى الحجم بالماء المقطر. إذا تصلبت محتويات الأنبوب ولم تنحل، سخن الأنابيب مرة ثانية حتى ذوبان الترسبات (الجبس). ثم برد بوساطة استخدام صنبور الماء.
6. يجب أن تحوي كل مجموعة batch من العينات المهضومة على أنبوب شاهد للمحاليل reagent blank

(بدون تربة)، وأنبوب قياسي يحوي تركيزاً معيناً من المحلول الأم chemical standard (بدون تربة، وحجم 1 مل من *المحلول الأم*).

ب. التقطير

7. قبل البدء بعملية التقطير للعينات المهضومة في كل مجموعة، أضبط جهاز pH مستخدماً محلولين قياسيين منظمين buffer solutions إحداهما المنظم "buffer" عند pH 7.0، والآخر لحساسية القطب المشترك "sensitivity" عند pH 4.0، وذلك بعد قياس درجة حرارة أحد المحلولين وتعديل مؤشر الحرارة على الجهاز. ثم قدر بالضبط نظامية H_2SO_4 0.01 *N* باستخدام جهاز المعايرة الآلي Auto-Titrator. وذلك بأخذ ثلاثة محاليل منفصلة بحجم 10 مل من محلول **Tris** 0.01 *N* القياسي ومعايرته بالحمض حتى درجة pH 5.0. ويجب أن تتفق المعايرات ضمن 0.03 مل، وإذا لم يتم ذلك، استمر بمعايرة محاليل قياسية جديدة حتى التوصل إلى القيم المتوافقة.

لحساب نظامية H_2SO_4:

$$N_{H_2SO_4} = \frac{10 \times N_{Tris}}{V_{H_2SO_4}} \qquad (23)$$

8. تُجرى عمليات التقطير كالتالي (أنظر المخطط البياني لوحدة التقطير في **الشكل 6**):

- ضع 1 مل من محلول **حمض البوريك المشبع** و1 مل من **الماء المقطر** في طبق التبخير dish evaporating سعة 100 مل، ثم ضع الطبق تحت رأس أنبوب المكثف condenser tip، على نحو يلامس فيه الرأس سطح المحلول.
- اسحب بوساطة الماصة 10 مل من العينة المهضومة وضعها في دورق تقطير distillation flask سعة 100 مل، أضف 10 مل من محلول **ماءات الصوديوم** 10 *N*.
- صل دورق التقطير مباشرة مع المحلول إلى وحدة التقطير بوساطة ملاقط خاصة clamp، ثم ابدأ عملية التقطير لمدة 3 دقائق، ثم اخفض الطبق بالتدريج كي تسمح للمادة المقطرة بالنزول بشكل حر إلى الطبق.
- بعد 4 دقائق، عندما يتم جمع حوالي 35 مل من المادة المقطرة، أوقف عملية التقطير، ثم اغسل رأس المكثف بكمية قليلة من الماء المقطر إلى طبق التبخير.
- عاير المادة المقطرة إلى درجة pH 5.0 بمحلول **H_2SO_4** 0.01*N* مستخدماً **جهاز المعايرة الآلي**.
- بعد الانتهاء من المعايرة، اغسل كلاً من قضيب التحريك المغناطيسي المغطى بالتيفلون teflon، ورأس السحاحة، والقطب المشترك إلى طبق الغسيل.

- يجب تبخير وحدة التقطير، بين عينات التقطير المختلفة، وذلك بعد فصل دوارق التقطير المحتوية على العينة المهضومة ومحلول ماءات الصوديوم كما يلي: صل دورق تقطير فارغ سعة 100 مل إلى وحدة التقطير. ضع كأس فارغ سعة 100 مل تحت رأس المكثف، أوقف المياه المتدفقة إلى المكثف (صرف المياه من غلاف المكثف condenser jacket)، ومن ثم بخر لمدة 90 ثانية.
- يجب أن تحتوي كل عملية تقطير على محلولين قياسيين standards وشاهدين blanks (شواهد المحاليل) كحد أدنى.

الحساب

النسبة المئوية لاسترداد Recovery **الآزوت النشادري** القياسي:

$$\% \, Recovery = \frac{(V\text{-}B) \times N \times 14.01 \times 100}{C \times D} \quad (24)$$

النسبة المئوية **للآزوت** في التربة :

$$\% \, N = \frac{(V\text{-}B) \times N \times R \times 14.01 \times 100}{Wt \times 1000} \quad (25)$$

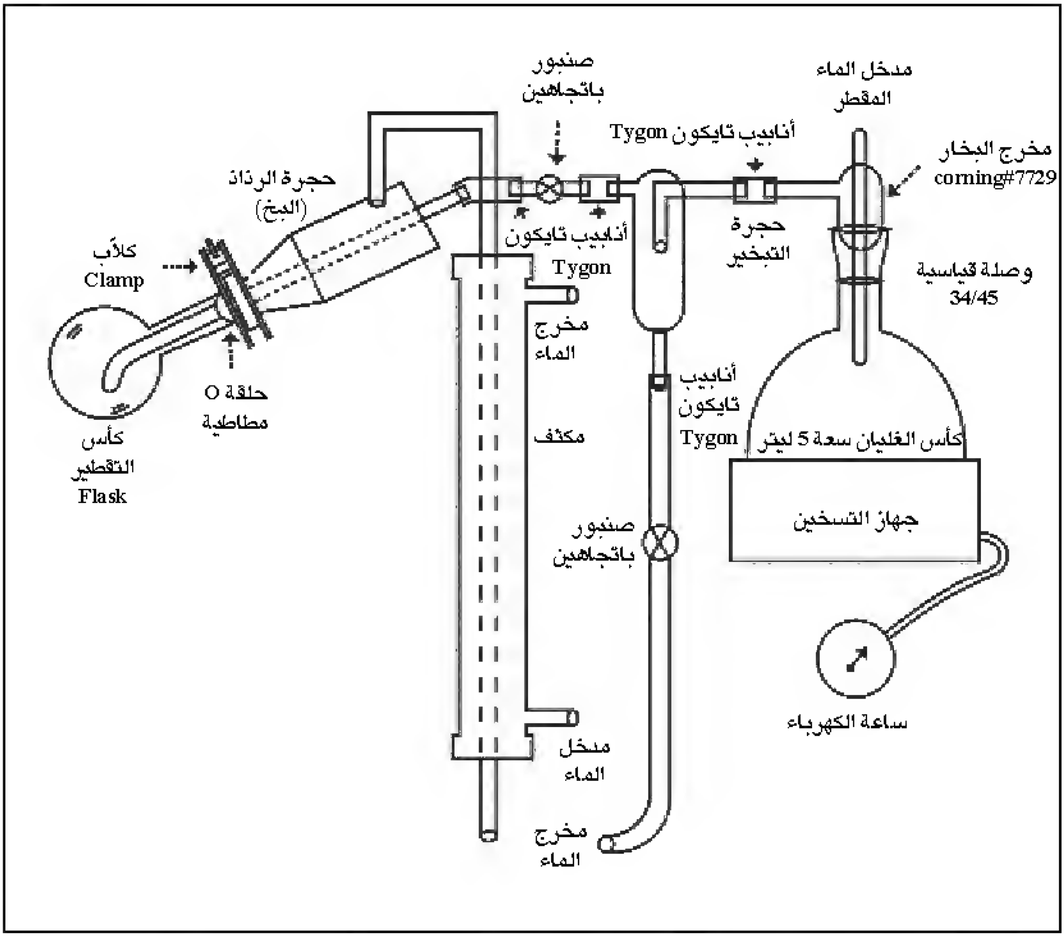
حيث أن:

V	=	حجم محلول H_2SO_4 0.01 N المستهلك في معايرة العينة (مل)
B	=	حجم معايرة الشاهد المهضوم (مل)
N	=	نظامية محلول H_2SO_4
14.01	=	الوزن الذري للآزوت
R	=	النسبة بين الحجم الكلي للعينة المهضومة وبين الحجم المأخوذ للتقطير.
Wt	=	وزن التربة الجافة هوائياً (غ)
C	=	حجم محلول NH_4-N القياسي (مل)
D	=	تركيز محلول NH_4-N القياسي (ميكروغرام/مل)

ملاحظات

1. قد يحتاج جهاز الهضم العزل بمادة واقية من الحرير الصخري *asbestos* للحصول على توزيع متناسق من درجات الحرارة.

2. أضف 3 مل من H_2SO_4 المركز إلى الماء المقطر الموجود في دورق التسخين heating mantle من خلال الأنبوب الواصل لأسفل الدورق لمنع تشكل أية كمية من NH_3. كما يجب إضافة بعض *حبيبات الغليان المغطاة بالتيفلون teflon boiling chips* لتنظيم الغليان بشكل لطيف.



الشكل رقم 6. رسم تخطيطي لجهاز وحدة التقطير

2.1.6 الآزوت الكلي

إن الفرق بين آزوت الكلداهل kjeldahl–N والآزوت الكلي total-N في التربة فرق صغير، ويرجع ذلك أساساً إلى تقدير الآزوت النتراتي nitrate-N والآزوت الكلي معاً. في طريقة العمل التالية يُرجع جزئ NO_3-N (الموجود في التربة) ولاحقاً يقدر في عملية التقطير (Bremner and Mulvaney, 1982; Buresh *et al.*, 1982).

المحاليل

أ. حمض الكبريت (H_2SO_4)، (sp. gr. 1.84، 98%) المركز

ب. محلول برمنغنات البوتاسيوم ($KMnO_4$)

أذب 50 غ من برمنغنات *البوتاسيوم* في الماء المقطر، وأكمل الحجم إلى ليتر بالماء المقطر. احفظ المحلول في زجاجة غامقة اللون.

ج. محلول حمض الكبريت (H_2SO_4)، النسبة 50% v/v

أضف ببطء ليتر من حمض *الكبريت المركز* إلى ليتر من *الماء المقطر* في دورق سعة 4 ليتر مع التحريك المستمر.

د. الحديد المُرجع

اطحن في طاحونة الكرات ball mill ثم غربل لتزيل أية مواد لا تمر عبر فتحات غربال قطره 0.15 مم (أقل من 150 mesh).

هـ. محلول N- أوكتيل الكحول

و. خليط المُحفز

يحضر كما في طريقة تقدير آزوت كلداهل.

ز. ملح EDTA ثنائي الصوديوم (Ethylene Diaminetetraacetic Acid)، الوزن الجزئيي = 372.2 يُخزن في المجفف.

ح. محلول ماءات الصوديوم (NaOH)، 10 *N*

يحضر كما في طريقة تقدير آزوت كلداهل.

ط. محلول حمض البوريك (H_3BO_3)، المشبع

يحضر كما في طريقة تقدير آزوت كلداهل.

ي. محلول Tris

يحضر كما في طريقة تقدير آزوت كلداهل.

ك. محلول حمض الكبريت (H_2SO_4)، 0.01 *N*

يحضر كما في طريقة تقدير آزوت كلداهل.

طريقة العمل

أ. الهضم

1. أمزج وانشر عينة التربة المطحونة الناعمة (0.15 مم) على صفيحة ورقية على شكل طبقة رقيقة، حتى تبدو بصورة متجانسة.
2. خذ عينة ممثلة لعينة التربة تحتوي على حوالي 3–8 ميلي غرام آزوت، وذلك بأخذ 10 أجزاء صغيرة من عينة التربة، مثلاً 10 غ.
3. زن عينة إلى اقرب 0.01 غ ثم ضعها في أنبوب هضم حجمي سعة 250 مل.
4. في نفس الوقت، خذ عينة تربة لتقدير نسبة الرطوبة (105°م).
5. أضف 10 مل من **الماء المقطر** لكل أنبوب وحرك بشكل دائري على نحو كامل لترطيب التربة. ثم دع التربة الرطبة لمدة 30 دقيقة.
6. حضر أنبوب هضم لعينة الشاهد في كل مجموعة من العينات، ثم زن 0.1 غ **من EDTA** (الدقة المطلوبة بالوزن حتى 0.1 ميلي غرام)
7. أضف 10 مل من محلول **برمنغنات البوتاسيوم**، حرك جيداً بشكل دائري، ثم اتركه لمدة 30 ثانية. بعد ذلك أمسك أنبوب الهضم بزاوية 45 درجة وأضف ببطء 20 مل من **حمض الكبريت** 50% على نحو يزيل المواد العالقة على حواف الأنبوب.
8. اترك الأنابيب بدون تحريك لمدة 15 دقيقة ثم حرك بشكل دائري.

هام: لا تحرك أنبوب الهضم مباشرة بعد إضافة الحمض، لمنع الفوران الزائد excessive frothing.

9. أضف نقطتين من محلول N- **أوكتيل الكحول.**
10. أضف عدة قطع من **حجر الخفان لتنظيم الغليان** إلى أنابيب الشاهد، وEDTA، والعينات.
11. أضف 2.5 غ من **الحديد المُرجع عبر** قمع طويل الساق long-stem funnel وغطّ مباشرة عنق الأنبوبة بقمع زجاجي 5 سم (بدون ساق)، ثم حرك بشكل دائري.
12. يمكن وقف الفوران الزائد في هذه المرحلة بإضافة 5 مل من الماء المقطر عبر قمع قطرة 5 سم، لا تحرك الأنابيب.
13. اترك الأنابيب طوال الليل.
14. أعد هضم العينات، بوضعها على جهاز هضم بارد، حيث تُرفع درجة الحرارة حتى 100°م لمدة ساعة. يصل جهاز الهضم لهذه الدرجة بعد 15 دقيقة ؛ لذلك فإن الوقت الكلي المطلوب على جهاز الهضم يساوي ساعة و15 دقيقة.
15. حرك العينات بشكل دائري بعد 45 دقيقة.
16. ارفع الأنابيب من على جهاز الهضم، ثم برد. يمكن استخدام التبريد السريع بوساطة صنبور الماء.
17. اتركها طوال الليل.
18. أضف حوالي 5 غ من **خليط المُحفز** عبر قمع طويل الساق. ثم أضف 25 مل من **حمض الكبريت المركز** لكل أنبوب، وحرّك الأنبوب بشكل دائري (قد تحتاج إلى كمية زائدة من الحمض في حالة استخدام كميات أكبر من التربة).
19. أعد الأنابيب إلى جهاز الهضم المسخن حتى درجة حرارة 100°م، ثم ارفع درجة الحرارة إلى 240°م، بعد ذلك ارفع الأقماع عن الأنابيب.
20. رتب الأقماع بانتظام بحيث يمكن إعادتها إلى أنبوب الهضم نفسه. يصل جهاز الهضم إلى هذه الدرجة بعد 40 دقيقة.
21. استمر في عملية الغليان لإزالة الماء لمدة ساعة بعد الوصول لدرجة الحرارة 240°م.
22. بعد إزالة الماء، أعد الأقماع، وارفع درجة الحرارة حتى 380°م.
23. أضبط الوقت اللازم على جهاز الهضم، واستمر بالهضم لمدة 4 ساعات عند درجة الحرارة 380°م.
24. ارفع الأنابيب من على جهاز الهضم، أضف حوالي 50 مل من **الماء المقطر**، وامزج جيداً بوساطة جهاز خلاط الأنابيب الدوراني. وفي حالة بقاء مواد صلبة مترسبة في الأنابيب فإنها تُفرط بوساطة قضيب زجاجي.
25. بعد التبريد، أضف **الماء المقطر** حتى الحجم 250 مل.

ب. التقطير

1. قبل البدء بعملية التقطير، رج أنبوب الهضم حتى يتم مزج محتوياته بشكل كامل، ومن ثم اسحب بوساطة

الماصة 50 مل من المزيج وضعها في دورق التقطير سعة 250 مل.

2. قطِّر المزيج المهضوم مع كمية زائدة من **ماءات الصوديوم NaOH**. والكمية المطلوبة من المزيج المهضوم للسحب 50 مل أو100 مل حيث يضاف 25 مل أو50 مل من **NaOH 10** *N*، على التوالي.
3. تُجرى عمليات التقطير كالتالي :

- ضع 1 مل من محلول **حمض البوريك المشبع** و1 مل من **الماء المقطر** في طبق التبخير evaporating dish سعة 100 مل، ثم ضع الطبق تحت رأس أنبوب المكثف condenser tip على نحو يلامس الرأس سطح المحلول.
- ضع بعناية الكمية الموافقة من NaOH 10 *N* إلى حواف الدورق، وذلك بإمساك دورق التقطير الحاوي على المادة المهضومة بزاوية 50 درجة.
- صل مباشرة دورق التقطير مع المحلول إلى وحدة التقطير بوساطة ملقط خاص clamp، ثم ابدأ عملية التقطير، استمر لمدة 3 دقائق، اخفض الطبق بالتدريج لكي يُسمح للمادة المقطرة بالنزول بشكل حر إلى الطبق.
- أوقف عملية التقطير، بعد 4 دقائق، عندما يتم جمع حوالي 35 مل من المادة المقطرة، ثم اغسل رأس المكثف بكمية قليلة من الماء المقطر إلى طبق التبخير.

هام: يتأخر ظهور المادة المقطرة عند استخدام أحجام كبيرة من المادة المهضومة، علماً أن فترة التقطير يجب ألا تتجاوز 4 دقائق في كل الأحوال منذ ظهور أول قطرة من المحلول المقطر.

- عاير المادة المقطرة إلى درجة pH 5.0 بمحلول **H_2SO_4** 0.01 *N* مستخدما **جهاز المعايرة الآلي - Auto Titrator**.
- بعد الانتهاء من المعايرة، اغسل قضيب التحريك المغناطيسي المغطى بالتيفلون teflon، ورأس السحاحة، والقطب المشترك إلى طبق الغسيل.
- يجب تبخير وحدة التقطير، بين عينات التقطير المختلفة، وذلك بعد فصل دوارق التقطير المحتوية على العينة المهضومة ومحلول ماءات الصوديوم كما يلي : صل دورق تقطير فارغ سعة 100 مل إلى وحدة التقطير. ضع كأس فارغ سعة 100 مل تحت رأس المكثف، أوقف تدفق المياه القادمة إلى المكثف (صرف المياه من غلاف المكثف condenser jacket)، ومن ثم بخر لمدة 90 ثانية.
- يجب أن تحتوي كل عملية تقطير على محلولين قياسيين standards وشاهدين blanks (شواهد المحاليل) كحد أدنى.

الحساب

النسبة المئوية من استرداد **EDTA** القياسي:

$$\% \, Recovery = \frac{(V\text{-}B) \times N \times R \times 186.1 \times 100}{Wt_1 \times 1000} \qquad (26)$$

النسبة المئوية **للآزوت في التربة**:

$$\% \, N = \frac{(V\text{-}B) \times N \times R \times 14.01 \times 100}{Wt_2 \times 1000} \qquad (27)$$

حيث أن :

V = حجم محلول H_2SO_4 0.01 N المستهلك في معايرة العينة (مل)

B = حجم معايرة الشاهد المهضوم (مل)

N = نظامية محلول H_2SO_4.

14.01 = الوزن الذري للآزوت

R = النسبة بين الحجم الكلي للعينة المهضومة وبين الحجم المأخوذ للتقطير.

Wt_1 = وزن EDTA (غ)

Wt_2 = وزن التربة الجافة هوائياً (غ)

186.1 = الوزن المكافئ لمادة EDTA.

3.1.6 الآزوت المعدني

تمتص جذور النباتات الآزوت إما على شكل آزوت أمونياكي أو على شكل آزوت نتراتي، و تُنتج أيونات النشادر في الترب نتيجة انحلال المادة العضوية أو إضافة السماد الطبيعي. وتعتبر أيونات النترات الشكل النهائي لتحلل/تفاعلات الآزوت، إلا أنه يمكن تأمينه عن طريق الأسمدة.

يمكن أن يُفقد الآزوت المتاح available-N في التربة بطرق عديدة؛ منها *التطاير volatilization*، *والفقد عن طريق النترجة تحت الظروف اللاهوائية anaerobic de-nitrification*، *الارتشاح leaching*. وفي الأحوال الطبيعية، لا يرشح NH_4^+ من التربة لأن الشحنة الموجبة positive (+) charge تجذبها وتمسك بها الشحنة السالبة negative (-) charge لسطح الطين وجزيئات المادة العضوية المنحلة humus particles. على كل حال، تفقد الشحنة الموجبة متى تحول NH_4^+ إلى NO_3^-، و تصبح التربة غير قادرة على جذب الآزوت المتاح. فالماء الذي يرشح عبر قطاع التربة يرشح ويستنفذ NO_3^- الحر mobile من الطبقات العليا إلى الطبقات الدنيا، وحتى إلى المياه الجوفية إذا كان الارتشاح شديداً. ومن المرجح أن يتم *إنغسال النترات الشديد في الحقول التي يتم تسميدها بشكل زائد.*

ويعتبر وجود النترات في المياه الجوفية محط اهتمام بيئي وصحي. فالمستويات العالية من النترات في مياه الشرب (أكثر من 10 ppm) مرتبطة بمشاكل صحية مثل (methemoglobinemia) مما ينتج عنه مواليد "زرق".

يقدر الآزوت المعدني باستخدام محلول استخلاص بنسبة 5:1 (تربة : الماء). ويقدر الأمونيوم NH_4^+ و النترات NO_3^- بالإضافة إلى النتريت NO_2^- بتقطير بخار الأمونيا (NH_3) ammonia، باستخدام **MgO** الثقيل من أجل NH_4^+ و**خلطة ديفاردا** Alloy Devarda's من أجل (Bremner and Keeney, 1965) NO_3^-. تجمع المادة المقطرة في حمض H_3BO_3 المشبع و تعاير إلى 5.0 pH بمحلول H_2SO_4 المخفف. وتُقدر هذه الطريقة الأشكال المنحلة والمدمصة من NH_4^+، NO_3^-، NO_2^- في الترب. ويطلق على المجموع الكلي لهذه الأشكال اسم *الآزوت المعدني* (Keeney and Nelson, 1982; Buresh, *et al*., 1982).

المحاليل

أ. محلول كلورايد البوتاسيوم (KCl)، *M* 2

أذب 150 غ من *كلورايد البوتاسيوم* النقية في الماء المقطر، و أكمل الحجم إلى ليتر بالماء المقطر.

ب. أكسيد المغنزيوم (MgO)، بودرة

سخّن *أكسيد المغنزيوم* الثقيل في المرمدة muffle furnace عند درجة حرارة 600–700°م لمدة ساعتين، بردْ في مجفف يحتوي على حبيبات KOH، و احفظه في زجاجة محكمة الإغلاق.

ج. خلطة ديفاردا (50 Cu: 45 Al: 5 Zn)

اطحن في طاحونة تحتوي على الكرات ball mill *خلطة الديفاردا* إلى درجة يمكن معها مرور المنتج عبر منخل قطر فتحاته 100 mesh (0.150 مم) أوعلى الأقل 75% يمكنها المرور عبر منخل قطر فتحاته 300 mesh (0.050 مم).

د. محلول حمض البوريك (H_3BO_3)، المشبع

يحضر كما في طريقة تقدير آزوت كلداهل.

هـ. محلول Tris ($C_4H_{11}NO_3$)، 0.01 N

يحضر كما في طريقة تقدير آزوت كلداهل.

و. محلول حمض الكبريت (H_2SO_4)، 0.01 N

يحضر كما في طريقة تقدير آزوت كلداهل.

ز. محلول الأم القياسي

- جفف المادة الكيميائية النقية من *كبريتات الأمونيوم* $(NH_4)_2SO_4$، و*نترات البوتاسيوم* (KNO_3) بالفرن على درجة حرارة 100°م لمدة ساعتين، برد بالمجفف، واحفظه في زجاجة محكمة الإغلاق.
- أذب 5.6605 غ من *كبريتات الأمونيوم* و8.6624 غ *نترات البوتاسيوم* في الماء المقطر، انقل إلى دورق حجمي سعة ليتر، أمزج جيداً، وأكمل إلى الحجم بالماء المقطر. هذا المحلول يحتوي على 1.2 غ NH_4-N، و 1.2 غ NO_3-N في الليتر (*محلول الأم*).
- حضر محلولاً قياسياً من محلول الأم كالتالي:
- خفف 50 مل من *محلول الأم* إلى حجم ليتر بإضافة *محلول كلورايد البوتاسيوم* 2 M (*محلول الأم المخفف*).
- يحتوي كل 20 مل من *المحلول الأم المخفف* على 1.2 ميلي غرام من NH_4-N و 1.2 ميلي غرام من NO_3-N.

طريقة العمل

1. زن 30 غ تربة جافة هوائياً (2 مم) إلى دورق أرلنيماير سعة 250 مل، ثم أضف 150 مل من محلول **كلورايد البوتاسيوم** 2M (5:1 تربة : المحلول).

2. اغلق الدورق، رج العينات لمدة ساعة واحدة على جهاز رج كهربائي يدور في الساعة 200– 300 دورة/ الدقيقة ، ثم رشح المعلق مستخدماً ورقة ترشيح Whatman No. 42.

3. عاير جهاز pH، و قدر نظامية محلول H_2SO_4 0.01 N مستخدماً جهاز المعايرة الأتوماتيكي Auto-Titrator، كما في طريقة تقدير الآزوت Kjeldahl.

4. قبل البدء بعملية التقطير، اغسل وحدة جهاز التقطير بالبخار لمدة 10 دقائق. ثم أضبط عملية التقطير بحيث يمكن الحصول على 7–8 مل من المادة المقطرة في الدقيقة الواحدة.

5. يجب أن تتدفق مياه الصنبور عبر غلاف المكثف condenser jacket بمعدل كاف لإبقاء درجة حرارة المادة المقطرة دون 22°م

6. تُجرى عمليات التقطير كالتالي:

- ضع 1 مل من محلول **حمض البوريك المشبع** و 1 مل من **الماء المقطر** في طبق التبخير evaporating dish سعة 100 مل، ثم ضع الطبق تحت رأس أنبوب المكثف condenser tip على نحوٍ يلامس فيه الرأس سطح المحلول.
- اسحب بوساطة الماصة 20 مل من المعلّق الرائق وضعها في دورق تقطير distillation flask سعة 100 مل.
- لتقدير NH_4-N في المحلول، أضف 0.2 غ من **أكسيد المغنزيوم الثقيل** إلى دورق التقطير بوساطة ملعقة قياسية calibrated spoon.
- صل دورق التقطير مباشرة مع المحلول إلى وحدة التقطير distillation unit بوساطة ملقط خاص clamp ثم ابدأ عملية التقطير، لمدة 3 دقائق، خفّض الطبق بالتدريج لكي تسمح للمادة المقطرة بالنزول بشكل حر إلى الطبق.
- بعد 4 دقائق، وعندما يتم جمع حوالي 35 مل من المادة المقطرة، أوقف عملية التقطير، ثم اغسل رأس المكثف بكمية قليلة من الماء المقطر إلى طبق التبخير.

- عاير المادة المقطرة إلى درجة pH 5.0 بمحلول H_2SO_4 0.01 N مستخدماً **جهاز المعايرة الآلي Auto-Titrator**.
- بعد الانتهاء من المعايرة، اغسل كلاً من قضيب التحريك المغناطيسي المغطى بالتيفلون teflon، ورأس السحاحة، والقطب المشترك إلى طبق الغسيل.
- لتقدير NO_3-N (بالإضافة إلى NO_2-N) في نفس المستخلص، أضف 0.2 غ من **خلطة الديفاردا Devarda's alloy** إلى دورق التقطير بوساطة ملعقة قياسية.
- صل مباشرة دورق التقطير مع المحلول إلى وحدة التقطير distillation unit بوساطة ملقط خاص clamp ثم ابدأ عملية التقطير، كما هو الحال في عملية تقطير الأمونيوم.

- يجب تبخير وحدة التقطير، بين عينات التقطير المختلفة، و ذلك بعد فصل دوارق التقطير المحتوية على مستخلص KCl، كما يلي: صل دورق تقطير فارغ سعة 100 مل إلى وحدة التقطير. ضع كأس فارغ سعة 100 مل تحت رأس المكثف، أوقف المياه المتدفقة إلى المكثف (صرف المياه من غلاف المكثف condenser jacket)، بخر لمدة 90 ثانية. ولا يتم التبخير إلا أثناء عملية تقطير العينات المختلفة، و ليس بين الأمونيوم، و النترات في نفس العينة.
- يجب أن تحوي كل عملية تقطير على الأقل محلولين قياسيين standards و شاهدين blanks، أي محلول KCl 2 M دون إضافة تربة (محاليل شاهدة).

الحسابات

من أجل **الآزوت الأمونياكي** في التربة الجافة هوائياً:

$$NH_4-N\ (ppm) = \frac{(V\text{-}B) \times N \times R \times 14.01 \times 1000}{Wt} \quad (28)$$

من أجل **الآزوت الأمونياكي** في التربة الجافة بالفرن:

$$NH_4-N\ (ppm) = \frac{(V\text{-}B) \times N \times R \times 14.01 \times 1000}{Wt - \theta} \quad (29)$$

حيث أن:
V = حجم محلول H_2SO_4 0.01 N المستهلك في معايرة العينة (مل).
B = حجم معايرة الشاهد المهضوم (مل).
N = نظامية محلول H_2SO_4.
14.01 = الوزن الذري للآزوت.
R = النسبة بين الحجم الكلي لمحلول الاستخلاص و بين الحجم المأخوذ للتقطير.
Wt = وزن التربة الجافة هوائياً (30 غ).
θ = وزن الماء (غ) في كل 30 غ تربة جافة هوائياً.

ملاحظات

1. يحسب **تركيز NO_3-N** بنفس الطريقة التي يُحسب فيها NH_4-N، إلا أنه يتعين إدخال قيمة شاهد خلطة ديفاردا Devarda's Alloy في المعادلة.
2. يستخدم في بعض المختبرات، مستخلص 3:1 (تربة : محلول) لتقدير **الآزوت المعدني**. وبالنسبة للترب في شمال غربي سورية، يعطي مستخلص 5:1 مردوداً من NH_4-N أعلى مما يعطي مستخلص 3:1.
3. لتقدير NO_3-N في الترب الكلسية، ننصح باستخدام **الماء المقطر** كمحلول استخلاص، لأن الكربونات تنحل في محلول **KCl** وقد يُجمع بعض CO_2 في محلول H_3BO_3 خلال عملية التقطير. حيث تسبب هذه العملية تداخلاً سلبياً في تقدير NO_3-N في مستخلص KCl.
4. إذا أمكن ذلك، يفضل تقدير الآزوت المعدني في تربة رطبة، بعد أخذ العينات مباشرة من الحقل، غير أنه،

يجب أن يعبر عن النتائج التحليلية على أساس تربة جافة بالفرن. وفي حال عدم المقدرة على إجراء التحليل بعد أخذ العينات مباشرة، يمكن حفظ عينات التربة في جمّادة.

5. إذا جففت العينات بالهواء، قد يحدث التمعدن mineralization/النترجة nitrification نتيجة لظروف الرطوبة ودرجات الحرارة. و بالنسبة للترب في شمال غربي سورية، وجد أن محتويات الآزوت المعدني في الترب الجافة بالهواء air-dry وفي ترب الحقول الرطبة moist soils متماثلة تماماً مما يدل أن التحولات البيولوجية للآزوت لا تحدث بدرجة كبيرة في هذه العينات من التربة.

6. غالباً ما يكون هناك التباس كبير في العلاقة بين NO_3^- وNO_3-N. إذ أن أيون النترات هو الجمع بين ذرة آزوت واحدة وثلاث ذرات من الأوكسجين. حيث تساوي **الكتلة الكلية من NO_3^- : 48 + 14 = 62** وهكذا يوجد **62 غ في NO_3^- أي 14 غ آزوت و 48 غ أوكسجين**.

و يمكن التعبير عن هذه العلاقة بطريقتين، إما **62 غ NO_3^-** أو **14 غ NO_3-N** و كلا التعبيرين صحيح، حيث أن 62/14 = 4.43، لذلك يمكن تحويل قياس NO_3^- إلى تركيز آزوت حقيقي actual N concentration. وعلى سبيل المثال، يمكن التعبير عن 10 ppm NO_3-N على شكل 10 × 4.43 أو 44.3 ppm NO_3^-. إذ تشير كلتا القيمتين إلى نفس التركيز في صيغة مختلفة.

4.1.6 الآزوت النتراتي

يمكن قياس الآزوت النتراتي بوساطة جهاز التحليل الطيفي الضوئي spectrophotometric (باستخدام حمض الكروموتروبيك chromotropic acid). حيث أن استخدام التحليل الطيفي الضوئي بوساطة حمض الكروموتروبيك هي طريقة سريعة، واستخدمت في تقدير الآزوت النتراتي في الماء كما استخدمت فيما بعد للتربة (Sims and Jackson, 1971; Hadjidemetriou, 1982). و يمكن استخدامه كبديل لتقدير NO_3-N بطريقة التقطير. حيث وجدت علاقة وثيقة بين طريقة حمض *الكروموتروبيك و طريقة التقطير*.

الأجهزة

جهاز التحليل الطيفي الضوئي أو اللوني، طول الموجة 430 nm.

جهاز رج كهربائي، ترددي.

أدوات زجاجية مخبرية قياسية : كؤوس، دوارق حجميه، ماصات، أقماع.

المحاليل

أ. محلول كبريتات النحاس ($CuSO_4.5H_2O$)، 0.02 *N*

أذب 4.9936 غ من *كبريتات النحاس* في الماء المقطر، ثم أكمل الحجم إلى ليتر بالماء المقطر.

ب. محلول حمض الكروموتروبيك ($C_{10}H_6Na_2O_8S_2.2H_2O$)، 0.1%

أذب 0.368 غ من حمض *الكروموتروبيك* في 200 مل من حمض *الكبريت المركز*. احفظ المحلول في زجاجة غامقة اللون لمدة أسبوعين.

ج. حمض الكبريت (H_2SO_4)، المركّز

د. محلول الأم القياسي

- أذب 3.6092 غ من *نترات البوتاسيوم* (المجففة على درجة حرارة 100°م لمدة ساعتين) في 500 مل من محلول *كبريتات النحاس* 0.02 *N* (*محلول الأم*).
- خفف 10 مل من *محلول الأم* إلى 200 مل حجم نهائي بإضافة محلول *كبريتات النحاس* 0.02 *N*. هذا المحلول يحتوي 50 ppm NO_3-N (*محلول الأم المخفف*).
- حضر سلسلة من المحاليل القياسية من *محلول الأم المخفف* كالتالي :

• خفف 1، 2، 3، 4، 5، 6، و 7 مل من محلول *الأم المخفف* إلى 100 حجم نهائي حيث يضاف لكل منهما محلول *كبريتات النحاس* 0.02 *N*. هذه المحاليل تحتوي 0.5، 1.0، 1.5، 2.0، 2.5، 3.0، و 3.5 ppm NO_3-N، على التوالي.

طريقة العمل

1. زن 10 غ تربة جافة هوائياً (2 مم) إلى دورق أرلنيماير، ثم أضف 50 مل من محلول **كبريتات النحاس** 0.02 *N*.
2. رج لمدة 15 دقيقة ثم رشح بورق ترشيح مزدوج Whatman No. 42.
3. اسحب بوساطة الماصة 3 مل من الراشح إلى 50 مل دورق مخروطي conical flask، ثم ضع الدورق في الماء البارد لبضعة دقائق.
4. أضف 1 مل من محلول **حمض الكروموتروبيك** 0.1%، نقطة بعد نقطة، مباشرة إلى المحلول دون المزج، ثم ضع الدورق ثانية في الماء البارد لدقائق قليلة كي يبرد.
5. امزج المحلول، ثم أضف 6 مل من **حمض الكبريت المركز** على جدار الدورق دون مزجه.
6. بعد إضافة الحمض لكل العينات، رج الدورق بشكل دائري واتركه يبرد حتى يصل إلى درجة حرارة الغرفة، حيث يتحول إلى اللون الأصفر بعد 45 دقيقة.
7. حضر المنحنى القياسي كما يلي :

• اسحب بوساطة الماصة 3 مل من كل محلول قياسي (0.5 – 3.5 ppm)، وتابع الإجراءات كما هو الحال مع العينات.

• كذلك حضر شاهداً بسحب 3 مل من محلول $CuSO_4.5H_2O$ 0.02 *N*، وتابع الإجراءات كما هو الحال مع العينات.

• اقرأ الامتصاص الضوئي absorbance للشاهد، المحاليل القياسية، و العينات بعد 45 دقيقة على طول موجة 430 nm.

8. حضر الخط البياني للمحاليل القياسية، وذلك برسم خط بياني بين قراءة الامتصاص الضوئي وتركيز NO_3-N في المحاليل القياسية، على التوالي.
9. اقرأ تركيز الآزوت النتراتي NO_3-N في العينات المجهولة من الخط البياني.

الحساب

لحساب **الآزوت النتراتي** في التربة:

$$NO_3\text{–}N(ppm) = ppm\ NO_3\text{–}N\ (\text{من المنحنى القياسي}) \times \frac{A}{Wt} \times \frac{10}{v} \quad (30)$$

حيث أن : A = الحجم الكلي لمحلول الاستخلاص (مل)

V = حجم المستخلص المستخدم للقياس (3 مل)

Wt = وزن التربة الجافة هوائياً (غ)

ملاحظات

1 . في حال احتواء الترب على أكثر من 1 ppm من NO_3-N ، أضف 0.1 مل من حمض *سولفاميك* (*sulphamic acid* 0.2 % m/v في H_2SO_4 0.1 *N*) إلى 3 مل من محلول مستخلص العينة.

2. إذا أعطى ورق الترشيح محاليل أرجوانية اللون، اغسل الورق بالماء المقطر ثم جففه قبل الاستعمال.

5.1.6 الآزوت و الكربون في كتلة الأحياء الدقيقة

تُقاس كتلة الأحياء الدقيقة بطريقة التبخير/الحضن (fumigation / incubation) وذلك بتعريض التربة الرطبة المأخوذة مباشرة من الحقل fresh soil إلى أبخرة الكلوروفورم chloroform مما يسبب تحلل جدران خلايا البكتريا و تحرر محتواها بحيث يصبح من الممكن استخلاصها بمحلول K_2SO_4 0.5 *M*. إن هذه الطريقة لا تقيس نشاط الأحياء الدقيقة في التربة لأنها لا تميز بين الكائنات الحية الخامدة والنشطة أو بين الأصناف المختلفة للكائنات الدقيقة.

يجب الانتباه عند مقارنة عينات التربة المأخوذة من مواقع مختلفة لأن كتلة الأحياء الدقيقة تتباين إلى حد كبير ضمن التربة الواحدة استجابة للفضلات المدخلة ووفرة الرطوبة ودرجات الحرارة، فإذا أُجريت مقارنة بين ترب زراعية مختلفة في وقت واحد، فيجب أن تكون التُرب المأخوذة مباشرة من الحقل بمستوى السعة الحقلية أو قريب منها. أما إذا ما قورنت ترب مأخوذة من نظم بيئية مختلفة، عندها يجب جمع العينات في منتصف الموسم الرطب والموسم الجاف. و ترتكز الطريقة التالية على طريقة Anderson and Ingram (1993) Okalebo *et al*. (1993).

الأجهزة

- جهاز هضم، وأنابيب هضم حجميه.
- جهاز وحدة التقطير
- جهاز معايرة آلي موصول إلى جهاز قياس pH.
- جهاز خلاط أنابيب دوراني.
- مُجفف.
- جهاز رج كهربائي، دائري orbital.
- أدوات زجاجية مختبريه قياسية: كؤوس، دوارق حجميه، ماصات، وأقماع.

المحاليل

أ. محلول الكلوروفورم ($CHCl_3$)، خال من الكحول

اغسل *الكلوروفورم بحمض الكبريت المركز* 5% في قمع فصل separation funnel، افصل الحمض ثم اغسل برفق الكلوروفورم عدة مرات (8–12 مرة) في الماء المقطر. احفظ المحلول في زجاجة غامقة اللون.

ب. محلول كبريتات البوتاسيوم (K_2SO_4)، *M* 0.5

أذب 87.13 غ من *كبريتات البوتاسيوم* في الماء المقطر، وأكمل الحجم إلى ليتر بالماء المقطر.

ج. محلول كبريتات النحاس ($CuSO_4.5H_2O$)، *M* 0.2

أذب 49.94 غ من *كبريتات النحاس* في الماء المقطر، و أكمل الحجم إلى ليتر بالماء المقطر.

د. محلول ثاني كرومات البوتاسيوم ($K_2Cr_2O_7$)، *N* 0.4

أذب 19.616 غ من *ثاني كرومات البوتاسيوم* في الماء المقطر، و أكمل الحجم إلى ليتر بالماء المقطر.

هـ. محلول كبريتات الحديدوز و الأمونيوم [$Fe(NH_4)_2(SO_4)_2.\ 6H_2O$]، *N* 0.2

أذب 78.4 غ من *كبريتات الحديدوز والأمونيوم* في الماء المقطر، ثم أضف 5 مل من حمض *الكبريت المركز*، امزج جيداً، وأكمل الحجم إلى ليتر بالماء المقطر.

و. دليل 10.1 فينانثرولين

أذب 14.85 غ من دليل 10.1 *فينانثرولين* (1.10–phenanthroline)، 6.95 غ من *كبريتات الحديدوز* ($FeSO_4.7H_2O$) في الماء المقطر، و أكمل الحجم إلى ليتر بالماء المقطر.

ز. مزيج حمض الكبريت+ حمض الفوسفور (H_3PO_4: H_2SO_4) المركز، النسبة 2 : 1

أضف 1000 مل من حمض *الكبريت المركز* إلى 500 مل من حمض *الفوسفور المركز*.

طريقة العمل

1. زن مرتين 30 غ من عينات تربة مأخوذة مباشرة من الحقل في كأس سعة 100 مل. قدّر نسبة الرطوبة في عينة تربة ثانوية وبالتالي يمكن التعبير عن النتائج على أساس وزن تربة جافة بالفرن.
2. ضع الكؤوس المكررة في مجففين منفصلين، ضع في **المجفف الأول** عينات تربة fumigated samples مع كأس سعة 100 مل يحتوي على 50 مل من **الكلوروفورم** في وسط المجفف. أضف **حجر الخفان لتنظيم الغليان** إلى كأس الكلوروفورم، هذا سيساعد على سرعة تبخير الكلوروفورم. ثم ضع في **المجفف الثاني** عينات شاهدة غير مبخرة non-fumigated control samples، حيث يجب معالجتها بنفس الطريقة ماعدا التبخير بالكلوروفورم. ثم ضع أغطية المجففين، مع الانتباه إلى و ضع مادة مانعة للتسرب بشكل متناسق بينهما (**الشكل رقم 7**).
3. استخدم جهاز التفريغ vacuum لمعالجة العينات بالتبخير fumigated treatment إلى أن يتم غليان الكلوروفورم بسرعة.

4. أغلق المجفف واتركه تحت ظروف مظلمة لمدة 72 ساعة عند درجة حرارة الغرفة.
5. استخدم جهاز تفريغ لمعالجة العينات بالتبخير عدة مرات (8–14 مرة).

هام: يجب الانتباه إلى إن زيت مضخة التفريغ قد يحجز الكلوروفورم؛ لذلك يجب تغيير الزيت بصورة متكررة أكثر من الحالات العادية. و كإجراءات بديلة، يمكن حجز الكلوروفورم بوساطة إناء تبريد cooling finger لمنع التلوث من زيت جهاز التفريغ . و ليس من الضروري استخدام جهاز التفريغ لمعالجة عينات الشاهد.

6. افتح المجففات، وانقل عينات التربة المبخرة/الشاهد إلى دوارق أرلينماير سعة 250 مل. أضف 100 مل من محلول **كبريتات البوتاسيوم** 0.5 M. ثم رج لمدة ساعة.
7. رشح معلقات التربة باستخدام ورق ترشيح Whatman No. 42 أو بوساطة جهاز الطرد المركزي، للحصول على مستخلص رائق.

1. تقدير الآزوت

أ. الهضم

1. اسحب بوساطة الماصة 50 مل من الراشح إلى أنبوب هضم حجمي سعة 250 مل، ثم أضف 1 مل من محلول **كبريتات النحاس** 0.2 M.
2. أضف 10 مل من **حمض الكبريت المركز**، عدة قطع من **حجر الخفان لتنظيم الغليان**.
3. ضع حامل الأنابيب tubes rack في جهاز الهضم block-digester، ثم ارفع درجة الحرارة إلى 150°م، لإزالة الماء الزائد.
4. ارفع ببطء درجة الحرارة إلى 380°م، ثم اهضم لمدة 3 ساعات.
5. ارفع بحذر حامل الأنابيب من جهاز الهضم، ثم دع الأنابيب تبرد لدرجة حرارة الغرفة، وأكمل إلى الحجم بالماء المقطر.
6. يجب أن تحوي كل مجموعة batch من العينات المهضومة على أنبوب شاهد واحد على الأقل (بدون تربة)، وأنبوب قياسي من EDTA (زن بالضبط 0.1 غرام من EDTA إلى أقرب 0.1 ميلي غرام).

ب. التقطير

تقطير العينات و التحليل من أجل تقدير الآزوت، كما هو موضّح في طريقة تقدير الآزوت الكلي (خذ 50 مل من المحلول المهضوم، ثم أضف 15 مل من NaOH 10 N).

الحساب

حساب **محتوى الآزوت في كتلة الأحياء الدقيقة** في التربة :

$$\text{Biomass} - N\ (ppm) = (V-B) \times N \times 14.01 \times \frac{100+\theta}{Wt} \times \frac{250}{V1} \times \frac{1000}{V2} \quad (31)$$

$$\text{Microbial Biomass } N = (N_{fumigated} - N_{control}) \quad (32)$$

حيث أن: V = حجم محلول $N\,0.01\ H_2SO_4$ المستهلك في معايرة العينة (مل)

B = حجم معايرة الشاهد المهضوم (مل)

N = نظامية محلول H_2SO_4.

14.01 = الوزن الذري للآزوت.

Wt = وزن التربة المأخوذة مباشرة من الحقل (غ)

$V1$ = حجم محلول هضم التربة المأخوذ (مل)

$V2$ = حجم محلول التقطير المأخوذ (مل)

θ = وزن الماء (غ) في كل 30 غ تربة مأخوذة مباشرة من الحقل.

2. تقدير الكربون

أ. الهضم

1. اسحب بوساطة الماصة 8 مل من الراشح إلى أنبوب هضم حجمي سعة 100 مل، ثم أضف 2 مل من محلول **ثاني كرومات البوتاسيوم** $N\,0.4$.
2. أضف 0.07 غ من **أكسيد (II) الزئبق** (HgO)، و15 مل من مزيج **حمض الكبريت – الفوسفور** (1:2)، وعدة قطع من **حجر الخفان لتنظيم الغليان**.
3. ضع حامل الأنابيب في جهاز الهضم، ثم ارفع بالتدريج درجة الحرارة حتى 150°م، اهضم لمدة 30 دقيقة.
4. ارفع بحذر حامل الأنابيب من جهاز الهضم، دع الأنابيب تبرد لدرجة حرارة الغرفة، ثم أنقل العينة المهضومة بوساطة 25 مل من **الماء المقطر** إلى دورق إرلينماير سعة 250 مل.

ب. التقطير

أضف 2–3 نقط من دليل **10.1 – فينال ثرولين**، ثم عاير بمحلول **كبريتات الحديدوز والأمونيوم** 0.2 *N*، حتى يتغير اللون من الأخضر المزرق bluish-green إلى البني المحمر reddish-brown.

الحساب

من أجل **محتوى الكربون في كتلة الأحياء الدقيقة** في التربة :

$$\text{(33)} \quad Biomass - C\ (ppm) = (B\text{-}V) \times N \times 0.003 \times \frac{100+\theta}{Wt} \times \frac{1000}{V1} \times 1000$$

$$\text{(34)} \quad Microbial\ Biomass\ C = (C_{fumigated} - C_{control})$$

حيث أن:

V = حجم محلول $[Fe(NH_4)_2(SO_4)_2.\ 6H_2O]$ 0.2 *N* المستهلك في معايرة العينة (مل)

B = حجم معايرة الشاهد المهضوم (مل)

N = نظامية محلول $[Fe(NH_4)_2(SO_4)_2.\ 6H_2O]$.

0.003 = 3×10^{-3}، حيث أن 3 هو الوزن المكافئ للكربون.

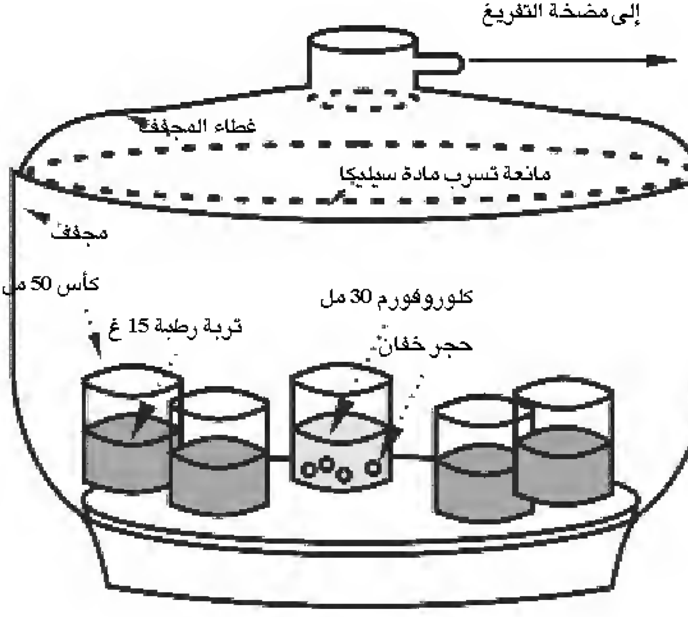
Wt = وزن التربة المأخوذة مباشرة من الحقل (غ)

V_1 = حجم محلول هضم التربة المأخوذ (مل)

θ = وزن الماء (غ) في كل 30 غ تربة مأخوذة مباشرة من الحقل.

ملاحظة

يقترح بعض المؤلفين تطبيق عوامل التصحيح المستمدة من التجارب على هذه النتائج. ويمكن الحصول على هذه العوامل بإجراء طريقة التبخير/الاستخلاص على الترب الحاوية على كمية معروفة من كتلة الأحياء الدقيقة (مثلاً الفطر) أو خلايا البكتريا المغسولة. ويدافع (1987) .Vance *et al* عن العامل 2.64 لكتلة الأحياء الدقيقة، في حين يَنصح (1985) .Brooks *et al* بالعامل 1.46 للأزوت في كتلة الأحياء الدقيقة. فلو طُبقت هذه العوامل، لتعين الإشارة إلى ذلك بوضوح عند إيراد النتائج. ونظراً للتباين الواسع في مجموعات الأحياء الدقيقة في الترب، يُقترح عدم تطبيق هذه العوامل.



الشكل رقم 7. المجفف وكيفية ترتيب العينات عند استخدام طريقة التبخير (Okalebo *et al*., 1993)